

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. med. G. Hegemann)

Der Kohlenhydrathaushalt beim isoliert perfundierten Hundepankreas unter der Wirkung von Xantinol-nicotinat

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Manfred Beer
aus
Schwandorf

D 29

1973

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. med. L. Demling

Referent: Prof. Dr. med. G. Hegemann

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Aug. 1973



Sonderdruck aus:

»ARZNEIMITTEL-FORSCHUNG«

»DRUG RESEARCH«

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) **24**, Nr. 1, 54—57 (1974)

Editio Cantor KG / Aulendorf i. Württ.

Aus der Chirurgischen Klinik
mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg;
Direktor: Professor Dr. G. Hegemann

**Der Kohlenhydrathaushalt
beim isoliert perfundieren Hundepankreas
unter der Wirkung von Xantinol-nicotinat**

Von

R. Husemann und **H.** Beer



Der Kohlenhydrathaushalt beim isoliert perfundierten Hundepankreas unter der Wirkung von Xantinol-nicotinat

Von B. Husemann und M. Beer

Die Wirkung verschiedener Medikamente auf das arterielle Gefäßsystem, besonders Drucksenkung bzw. Flowsteigerung (Husemann, Paquet), ist oft beschrieben worden. Der Wirkungsmechanismus ist jedoch noch weitgehend unbekannt. Die isolierte Organperfusion erlaubt die Beantwortung gezielter physiologischer und pathophysiologischer Fragestellungen. Auch Stoffwechselprozesse, wie sie im durchblutungsge störten Gewebe auftreten, sind meßbar. Im vorliegenden Fall soll geklärt werden, inwieweit der Glucosestoffwechsel bei der isolierten Perfusion eines Hundepankreas durch Xantinol-nicotinat*) beeinflusst wird. Im besonderen interessiert, ob sich das Blut-pH als Folge von Verschiebungen im Lactat-Pyruvat-Gleichgewicht verändert.

I. Material und Methodik

Zur Perfusion des isolierten Organs dient eine Rollerpumpe, die einen pulsatorischen Flow erzeugt (Husemann). Das Minuten-volumen wird kontinuierlich elektromagnetisch gemessen. Der arterielle Mitteldruck beträgt 90 mmHg. Die Temperatur wird durch einen Heat-Exchanger konstant bei 36,6° C gehalten. Die Ischämiezeit schwankt zwischen 4 und 12 min: Um den Stoffwechsel nicht über längere Zeit zu bremsen, wird das Pankreas nicht auf 4° C, sondern nur auf 28° C abgekühlt. Die Perfusionslösung setzt sich aus 300 ml autologem heparinisiertem Frischblut und 300 ml einer hochmolekularen Dextranlösung zusammen.

Die Bauchspeicheldrüse von 65 Hundebastarden mit einem mittleren Körpergewicht von 20 kg wird nach den üblichen Methoden exstirpiert [8]. Es handelt sich um 37 Pankreas- und 28 Pankreas-Duodenum-Präparate. Die beiden Hauptarterien, arteria pancreatico-duodenalis superior und inferior, sowie der Ductus Wirsungianus werden kanüliert. Glucose, Lactat, Pyruvat und Adenosintriphosphat (ATP) werden enzymatisch²⁾ bestimmt. Gleichzeitig werden in 15-min-Abständen das pH und die Blutgase pO₂ und pCO₂ registriert.

Versuchseinteilung

1. 28 Pankreasperfusionen zur Bestimmung der Normalwerte bei Organperfusion.

*) Complamin®, Firma Johann A. Wülfig, Neuss.

2) Biochemica-Testkombination, Firma Boehringer, Mannheim.

2. 15 Organperfusionen bei alkalischem pH-Wert.

3. 22 Organperfusionen bei saurem pH-Wert.

Bei Gruppe 2 und 3 wird Xantinol-nicotinat in einer Dosierung von 600 mg im Verlauf der Beobachtungszeit ein- bis zweimal verabreicht. Der Einfluß dieses Stoffes auf die verschiedenen Parameter wird gesondert ausgewertet.

Die Versuchszeit betrug im allgemeinen 6–8 h. Eine längere Perfusionszeit empfiehlt sich bei einer Pankreasperfusion nicht, da dann mit Störungen durch Ödem und Nekrosen zu rechnen ist.

II. Versuchsergebnisse

1. Normalperfusion des Hundepankreas

Am auffälligsten ist ein Abbau der Glucose von einem Ausgangswert mit 130 mg% auf 80 mg% nach 4 h 30 min. Dem entspricht eine Reduktion auf 60% des Ausgangswertes (Abb. 1). Der durchschnittliche Glucoseverbrauch beträgt 9 mg/h. Daraus ergibt sich ein $tg\ 160^{\circ}$ ($= 0,33$).

Der Lactatspiegel steigt während der unbeeinflussten Perfusion im Verlauf der ersten 3 h von 9 mg% auf 38 mg% ($= 420\%$ des Ausgangswertes) an (Abb. 2). Im Verlauf der weiteren Beobachtungszeit fällt er wieder langsam ab, um sich nach etwa 4 h bei 18 mg% einzupendeln.

Der Pyruvatspiegel zeigt einen dem Lactatspiegel ähnlichen Verlauf mit einem Gipfel ($= 2,4\text{ mg}/100\text{ ml}$) nach 3 h. Die Steigung α beträgt jedoch im Gegensatz zu Lactat (gemittelt $\alpha = 50^{\circ}$) nur $\alpha = 33^{\circ}$.

2. Beeinflussung durch Xantinol-nicotinat

Unter der Wirkung von Xantinol-nicotinat erfolgt ein deutlich gesteigerter Glucoseabbau im Vergleich mit der Normalperfusion (Abb. 3).

Der stündliche Abbau beträgt 22 mg%, $tg\ \alpha = 0,66$.

Der bei der Pankreasperfusion zu erwartende Lactatanstieg wird durch Xantinol-nicotinat unterbrochen (Abb. 4). Lactat sinkt für 90 min deutlich ab. Der Endwert liegt mit 18 mg% im oberen Normbereich.

Nach einmaliger Injektion von 600 mg Xantinol-nicotinat steigt der Pyruvatspiegel steil auf 333% des Ausgangswertes an, im Gegensatz zum gleich hohen, jedoch langsameren Anstieg ohne Beeinflussung. Die Steigung der Kurve beträgt $\alpha = 100^{\circ}$ (Abb. 5).

Eine Wiederholung der Applikation von 600 mg Xantinol-nicotinat innerhalb von 2 h steigert die Wirkung: Lactat sinkt erneut, und der Pyruvatspiegel zeigt einen zweiten Gipfel von über 4 mg% (Abb. 6 u. 7): Der Gesamtanstieg von Lactat nach 5 h liegt niedriger als bei der Normalperfusion.

Der Lactat-Pyruvat-Quotient sinkt von 0,76 auf 1,31.

Wird im isoliert perfundierten Pankreas eine akute Entzündung mit Ödem und Nekrosen erzeugt, so folgen auch im Kohlenhydratstoffwechsel tiefgreifende Änderungen. Der Glu-

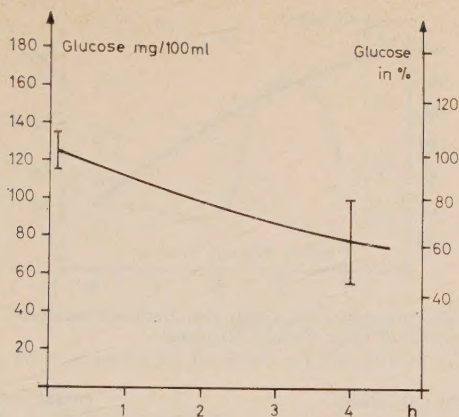


Abb. 1: Der Glucoseverbrauch während einer Normalperfusion. Ausgangs- und Endwert sind signifikant verschieden.

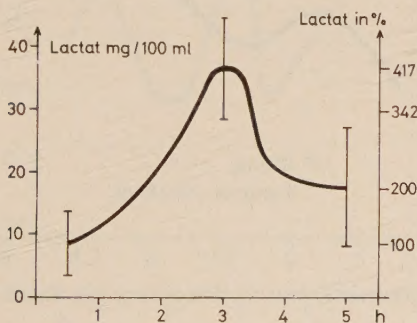


Abb. 2: Änderung des Lactatspiegels während der Pankreasperfusion.

coseverbrauch ist stark beschleunigt. Ständige Zugabe von hochprozentiger Glucoselösung ist zur Bilanzierung nötig. Lactat ist während der ganzen Perfusionszeit konstant bei 20 mg/ml und Pyruvat stets unter 0,7 mg%. Auch Xantinol-nicotinat kann hier keine Verschiebung erzielen.

3. Zusammenhang zwischen Lactat, Pyruvat und pH-Wert

Während der Normalperfusion bleibt sowohl ein alkalisches als auch ein saures pH die ganze Zeit über erhalten. Wird jedoch Xantinol-nicotinat verabreicht, so beobachtet man bei jeder Wasserstoffionenkonzentration eine Verschiebung in den

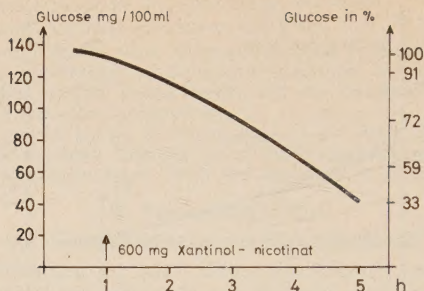


Abb. 3: Glucosespiegel bei Gabe von Xantinol-nicotinat. Es wird in der Zeiteinheit mehr Zucker abgebaut.

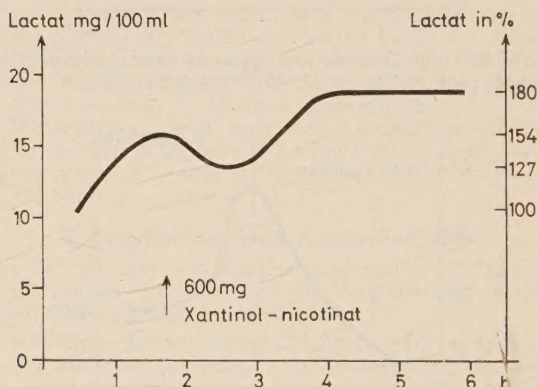


Abb. 4: Lactat sinkt unter der Einwirkung von Xantinol-nicotinat ab.

sauren Bereich (Abb. 8). Eine Normalisierung wird erst nach 4—5 Perfusionsstunden erzielt. Gleichzeitig beobachtet man eine Reduzierung des Lactatspiegels und eine Erhöhung des Pyruvatspiegels (Abb. 5, 6, 9). Differenziert man zwischen alkalischem und saurem pH, so fällt die bei basischem pH wesentlich stärkere Erhöhung des Pyruvatspiegels als bei saurem pH auf. Der Lactatspiegel zeigt keine Unterschiede.

4. Druckverhalten

Bei der Pankreasperfusion beobachtet man in den ersten 2 h eine Druckerhöhung um ca. 20%, die sich nach ca. 4 h wieder beim Ausgangswert einpendelt. Durch Xantinol-nicotinat wird dagegen eine Drucksenkung um ca. 25% für 2 h erzielt. Enddruck ist gleich Ausgangsdruck. Die Ödembildung ist im

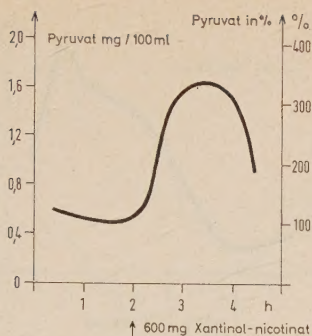


Abb. 5: Pyruvat und seine Reaktion auf Xantinol-nicotinat.

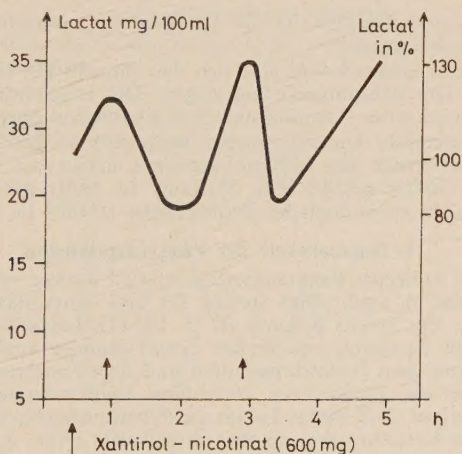
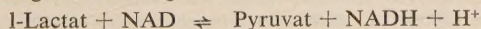


Abb. 6: Der Lactatspiegel sinkt bei mehrfacher Applikation von Xantinol-nicotinat jeweils neu ab.

Vergleich zur unbeeinflussten Perfusion deutlich verlangsamt. Der gemessene Gewichtszuwachs beträgt im Gegensatz zur Normalperfusion (60%) nur 15%.

III. Zusammenfassung und Beurteilung

Wichtige Stoffwechselgrößen beim Abbau der Kohlenhydrate sind Glucose, Lactat und Pyruvat. Zwischen Milchsäure und Brenztraubensäure besteht ein enger Zusammenhang, der durch folgende Gleichgewichtsreaktion beschrieben wird:



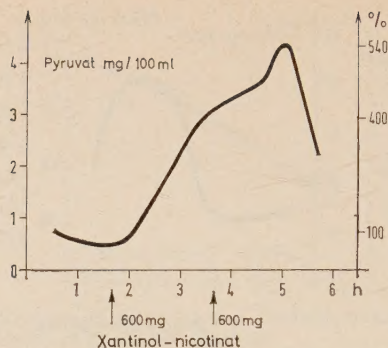


Abb. 7: Pyruvat steigt steil an.

Bei Sauerstoffmangel ist die Lactatbildung (anaerobe Glycolyse) gesteigert.

Besonders eindrucksvoll läßt sich dies klinisch bei einer arteriellen Durchblutungsstörung zeigen: Die angehäuften Milchsäure wird unter Xantinol-nicotinat zu Pyruvat abgebaut.

Experimentelle Untersuchungen beim isoliert perfundierten Hundepankreas mit Xantinol-nicotinat haben die Beobachtungen weiter geklärt. Die Methode ist dafür geeignet, da sie nahezu physiologische Bedingungen erlaubt [5, 7].

1. Normalwerte der Pankreasperfusion

Bei der isolierten Pankreasperfusion wird Zucker verbraucht, im Mittel 9 mg/h. Dies spricht für eine Ausschüttung von Insulin, wie bereits bekannt ist [5, 10, 11]. Lactat ist zu Beginn der Perfusion und in den ersten Stunden erhöht. Dies hängt mit dem Operationstrauma und dem Sauerstoffmangel während der Ischämiezeit zusammen. Beim weiteren Perfusionsverlauf wird dieses Lactat zu Pyruvat abgebaut, wie die Pyruvat-Konzentration im Blut direkt zeigt (Abb. 3, 10). Die Wasserstoffionenkonzentration bleibt konstant.

2. Beeinflussung durch Xantinol-nicotinat

Nach der Gabe von Xantinol-nicotinat beobachtet man auffällige Stoffwechseleränderungen. Der stündliche Glucoseverbrauch steigt von 9 mg auf 22 mg. Lactat sinkt deutlich ab, und der Pyruvatspiegel wird verdreifacht. Eine Wiederholung erhöht die Wirkung (Abb. 9).

Diese Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen von Brenner überein, der mit Ratten arbeitet, die mit Adrenalin vorbehandelt wurden: Lactat wird angehäuften und nach Gabe von Xantinol-nicotinat in Pyruvat umgewandelt und im Krebszyklus abgebaut. Bei der isolierten Pankreasperfusion wird Pyruvat faßbar, da es nicht weiter verwertet werden kann.

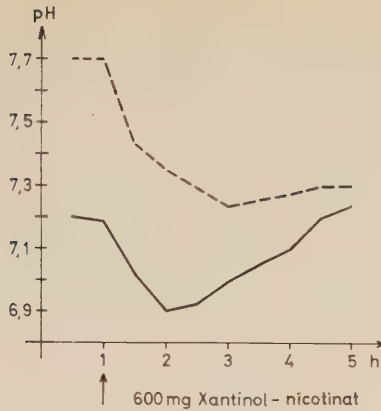


Abb. 8: Änderung des pH-Wertes bei der Pankreasperfusion durch Xantinol-nicotinat.

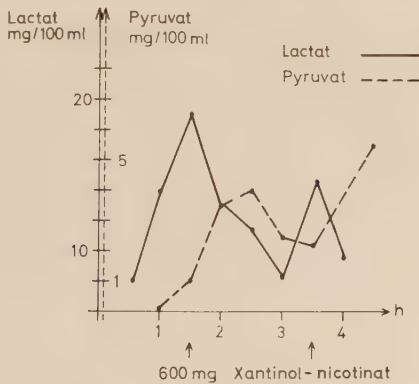


Abb. 9: Pyruvat und Lactat bei der Pankreasperfusion.

So ist auch die Beobachtung verständlich, daß der Glucosestoffwechsel weder beim normalen noch beim Alloxan-diabetischen Tier durch Xantinol-nicotinat verändert wird. Der Regler des Glucosespiegels läßt dies nicht zu. Da bei der isolierten Pankreasperfusion Glucose nicht nachgegeben wird, und der Abbau von Pyruvat, z. B. im Muskel, nicht vorhanden ist, sind die Werte besonders verläßlich.

Die Umkehrung der Gleichgewichtsreaktion Lactat-Pyruvat ist durch Xantinol-nicotinat möglich. Diese direkte Wirkung auf den Stoffwechsel hängt mit einer Steigerung des Nicotin-

amid-adenin-dinucleotid (NAD)-Spiegels zusammen (Frank u. Nasse). Somit ist durch Xantinol-nicotinat eine Bereitstellung von ATP möglich (Brenner). Ob die Beschleunigung des Glucoseverbrauches direkt beeinflusst wird, oder ob durch den Abbau des Lactats mehr Glucose als Gleichgewichtsreaktion verbraucht wird, läßt sich mit unseren Ergebnissen nicht exakt klären.

Xantinol-nicotinat hat in vitro eine Pufferwirkung. Es ist anzunehmen, daß es sich dabei um eine rein chemische Pufferung handelt. Bei der isolierten Pankreasperfusion ist diese Pufferung nicht direkt nachweisbar: Man beobachtet zuerst bei saurem wie bei basischem pH eine Verschiebung in den sauren Bereich (Abb. 8). Eine Normalisierung zeigt sich erst nach ca. 4 h. Dies beruht auf der gesteigerten Produktion von H^+ durch die Umwandlung von Lactat in Pyruvat, die bei diesem Modell nicht schnell genug gepuffert werden können.

Die stärkere Pyruvatbildung bei alkalischem pH spricht jedoch dafür, daß die Geschwindigkeit des Reaktionsablaufes von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt.

3. Perfusionsdauer

Da das Ödem durch günstigere Durchblutungsverhältnisse unter der Wirkung von Xantinol-nicotinat später als ohne das Medikament eintritt, läßt sich die Perfusionszeit verlängern. Paquet hat dies für die Niere bereits nachgewiesen. Bei unseren Versuchen ist das Äquivalent ein niedrigerer Perfusionsdruck bei gleichem Blutminutenvolumen.

Die beschriebenen Versuchsergebnisse zeigen verschiedene Wirkungsmechanismen von Xantinol-nicotinat: Abbau saurer Stoffwechselprodukte, beim Ganztier wahrscheinlich Pufferwirkung, Verbesserung der O_2 -Utilisation durch Mehrdurchblutung. Gleichzeitig ist eine Fibrinolyse bekannt (Bross et al.). Damit wird der Therapieerfolg bei chirurgisch inkurablen arteriellen Durchblutungsstörungen erklärt.

Zusammenfassung

1. Xantinol-nicotinat beschleunigt bei der isolierten Pankreasperfusion den Glucoseverbrauch.
2. Lactat wird zu Pyruvat abgebaut.
3. Diese Wirkung ist bei alkalischem pH stärker, womit eine pH-Abhängigkeit bzw. Pufferung wahrscheinlich ist.
4. Die Perfusionszeit läßt sich durch Xantinol-nicotinat verlängern.

Summary

The Carbohydrate Balance in the Perfused Isolated Dog Pancreas under the Influence of Xantinol-nicotinate

1. Xantinol-nicotinate increases the glucose consumption by the isolated pancreas perfusion.

2. Lactate is transformed to pyruvate.
3. This effect is greater with alcalose than with acidose. Therefore, a buffering action is possible.
4. The perfusion time is elongated by xantinol-nicotinate.

Literatur

- [1] Brenner, G., *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **20**, 1860 (1970) —
 [2] Brenner, G., *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **23**, 562 (1973) —
 [3] Bross, W., Kozuszek, W., Masiak, M., Kalembe, J., *Med. Klin.* **62**, 755 (1967) — [4] Frank, S., Nasse, H., *Med. Welt* **96** (1961) —
 [5] Husemann, B., *Langenbecks Arch. klin. Chir. Suppl. Chir. Forum S.* **163** (1972) — [6] Husemann, B., *Urologe* **3**, 113 (1969) —
 [7] Idezuki, Y., Feemster, J. A., Dietzmann, R. H., Lillehei, R. C., *Surg. Gyn. Obst.*, May 1968 — [8] Mitchell, R., Davidson, J. K., *Surgery* **62/3** (1967) — [8] Paquet, K. J., *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **16**, 570 (1966) — [10] Schäfer, G., Mehnert, H., Kalíampetos, G., Faust, G., Gruber, E., *Klin. Wschr.* **40**, 1141 (1962) —
 [11] Seddon, J. A., Howard, J. M., *Surgery* **59**, 235 (1966)

Für die Verf.: Dr. B. Husemann, Chirurgische Klinik mit Poliklinik
 der Universität, 8520 Erlangen, Maximiliansplatz

Verantwortlich für die Redaktion: Dr. med. H. Schmitz; Stellvertreter:
 V. Schramm. Redaktions-Sekretariat: H. Nowack. Verlag: Editio
 Cantor, 796 Aulendorf/Württ., Ruf: Aulendorf (07525) 431. Druck: Ver-
 einigte Buchdruckereien, August Sandmaier & Sohn, 7952 Bad Buchau.

Alle Rechte vorbehalten.

Bezugsbedingungen: Die Zeitschrift erscheint monatlich einmal. Sie
 kann vom Verlag oder durch eine Buchhandlung bezogen werden. Der
 Bezugspreis beträgt im Abonnement pro Halbjahr (6 Hefte) 65,— DM
 zuzügl. Versandkosten. Das Einzelheft kostet 11,— DM zuzügl. Versand-
 kosten. Kostenlose Probehefte liefert der Verlag auf Anforderung.

Lebenslauf

14. Okt. 1948 geboren in Schwandorf als Sohn der Eheleute
Konrad und Betty Beer, geb. Killermann
- Sept. 1954 Besuch der Knaben-Volksschule Schwandorf
- Sept. 1960 Staatl. Realschule Burglengenfeld
- Sept. 1962 Staatl. Realschule Nabburg
- Juni 1964 Mittlere Reife
- Sept. 1964 Hanns-Seidel-Gymnasium Amberg
- Juni 1967 Abitur
- Sept. 1967 Medizinstudium an der Universität Erlangen
- Juli 1968 Vorphysikum in Erlangen
- Febr. 1970 Physikum in Erlangen
- Juli 1973 Examen in Erlangen
- Aug. 1973 Promotion in Erlangen

